珍贵固氮树种降香黄檀与二代巨尾桉混交种植对土壤微生物群落结构和功能的影响

陈永康[1]，谭许脉[1]，李萌[1]，徐浩成[1]，莫雪青[1]，肖纳[1]，尤业明[1,2]，黄雪蔓[1,2]，温远光[1,2]，朱宏光[1,2,*]
（1. 广西大学 林学院 广西森林生态与保育重点实验室， 南宁 530004；2. 广西友谊关森林生态系统国家定位观测研究站，广西 凭祥 532600）

摘要：该研究以二代巨尾桉/降香黄檀混交林（MP）作为研究对象，并以邻接的二代巨尾桉纯林（PP）作为对照（CK），采用磷脂脂肪酸（PLFAs）和土壤酶活性分别表征土壤微生物群落结构和功能，重点探究南亚热带 PP 引入降香黄檀混交种植对土壤微生物群落结构和功能的影响。结果表明：与 PP 相比，（1）MP 的土壤有机碳（SOC）、总氮（TN）、铵态氮（NH_4^+-N）、硝态氮（NO_3^--N）和 pH 值分别显著或极显著增加了 61.92%（$P<0.05$）、60.12%（$P<0.05$）、72.87%（$P<0.01$）、488.49%（$P<0.01$）和 15.97%（$P<0.05$）；（2）MP 的真菌/细菌（F/B）显著降低，但总微生物生物量、革兰氏阴性菌/阳性菌（G^-/G^+）并无显著变化；（3）MP 的土壤微生物群落组成发生了显著变化，而 pH 值、NH_4^+-N 和 C/N_{litter} 是驱动其微生物群落组成发生变异的最显著性因子；（4）MP 的β-葡萄糖苷酶（BG）和 N-乙酰-葡萄糖苷酶（NAG）活性显著提高，而过氧化物酶（PER）活性显著降低，酚氧化酶（PO）和酸性磷酸酶（ACP）活性没有显著变化。该研究说明在连续短周期经营的桉树林中套种固氮树种降香黄檀，将可能是提高桉树林土壤质量的一种有效的经营管理措施。

关键词：桉树人工林，固氮树种，土壤养分，土壤微生物群落结构，土壤酶活性，南亚热带

The effects of the mixture of the valuable nitrogen-fixing tree species *Dalbergia odorifera* and second-generation *Eucalyptus urophylla* on the structure and function of soil microbial community in subtropical China

CHEN Yongkang[1], TAN Xumai[1], LI Meng[1], XU Haocheng[1], MO Xueqing[1], XIAO Na[1], YOU Yeming[1,3], HUANG Xueman[1,3], WEN Yuanguang[1,3], ZHU Hongguang[1,3,*]
(1.*Guangxi Key Laboratory of Forest Ecology and Conservation*，*College of Forestry*，*Guangxi University*, Nanning 530004，Guangxi，China; 2.E*xperimental Center of Tropical Forestry*, *Chinese*

收稿日期：2020-02-12
基金项目：国家自然科学基金（31560201；31960240）；广西自然科学基金（2017GXNSFAA198207；2017GXNSFAA 198114；2018GXNSFAA294139；2019GXNSFAA185023）[Supported by the National Natural Science Foundation of China (31560201 ； 31960240) and the Guangxi Natural Science Foundation (2017GXNSFAA198207；2017GXNSFAA198114；2018GXNSFAA294139；2019GXNSFAA185023)] 。
作者简介：陈永康（1994-），女，山东省东营人，硕士研究生，研究方向为森林生态学，（E-mail）981973863@qq.com。
***通信作者：**朱宏光，副研究员，研究方向为森林生态学，（E-mail）xu980307@163.com。

Academy of Forestry, Pingxiang 532600，Guangxi，China; 3.*Guangxi Youyiguang Forest Ecosystem Research Station*，Pingxiang 532600，Guangxi，China)

Abstract: In this study, the mixed second-generation *E. urophylla* and *Dalbergia odorifera* plantation (MP) was taken as our object, and the adjacent pure second-generation *E. urophylla* plantation (PP) was taken as the control (CK). We used phospholipid fatty acids (PLFAs) as biomarkers to assess soil microbial community composition and measured soil enzyme activity as an indicator of soil microbial function. We focused on the effects of mixing N-fixing species with *E. urophylla* on soil microbial community composition and function in subtropical China. The results showed that: (1) Soil organic carbon (SOC), total nitrogen (TN), ammonium nitrogen (NH_4^+-N), nitrate nitrogen (NO_3^--N) and pH in MP were significantly or extremely significantly increased by 61.92% (P<0.05), 60.12% (P<0.05), 72.87% (P<0.01), 488.49% (P<0.01) and 15.97% (P<0.05) compared with that in PP, respectively. (2) The ratios of fungal-to-bacterial biomass (F/B) were significantly lower in MP than that in PP. However, there were no significant difference between the PP and the MP in total PLFAs and the ratios of gram-negative bacteria to gram-positive bacteria (G^-/G^+). (3) The soil microbial community structure was significantly differed between MP and PP, and we found that the soil microbial community structure is strongly influenced by the variations of pH, NH_4^+-N and ratios of organic carbon to total nitrogen in litter (C/N_{litter}). (4) The activities of β-glucosidase (BG) and N-acetyl-glucosidase (NAG) involved in soil carbon and nitrogen transformation were significantly higher, but the activities of peroxidase (PER) were lower in MP than that in PP. Nevertheless, the differences in phenoloxidase (PO) and acid phosphatase (ACP) activities were not significant between MP and PP. The results indicate that interplanting of nitrogen-fixing species in *Eucalyptus* plantations may be an effective management measure to improve soil quality in subtropical region.

Key words: *Eucalyptus* plantation， N-fixing species， soil nutrient， soil microbial community structure，soil enzyme activity，south subtropical

桉树由于其具有生长速度快，适生于酸性红壤和木材用途广等特点，在我国水热条件均佳的热带、亚热带地区被广泛种植。目前，我国桉树的种植面积约为 450 万 hm^2，约占全国林地面积的 1.4%，每年的木材产量约为 3000 万 m^3，约占全国木材年产量的 26.9%，在满足社会对木材的迫切需求和应对全球气候变化等方面发挥着重要作用（中国林学会，2016；温远光等，2018；陶彦良等，2018）。然而，在土地资源短缺、木材供需紧张的情况下，种植单一树种并采用短周期的经营模式往往会导致土壤肥力衰退、林下生物多样性锐减、水土流失严重以及生态系统功能急剧退化等生态问题的产生（Huang et al.，2014，2017），这已成为众多国内外科学家尤其是林业生态学家们普遍关注和亟待解决的问题。

固氮（N）树种的根系能够与固 N 菌共生，利用固 N 菌的持续固 N 作用提高土壤 N 的含量及其有效性（Huang et al.，2014）。近年来，在桉树人工纯林中引入珍贵的乡土固 N 树种，如降香黄檀 *Dalbergia odorifera*），形成桉树/珍贵固 N 树种的混交模式，是目前我国乃至世界范围内被广泛采用的桉树人工纯林改造模式。这种改造模式一定程度上可以解决桉树人工林生产经营中存在的经济效益较高但生态风险可能较大，以及珍贵固氮树种经济价值高、生态功能较强但效益较迟缓等经济效益与生态功能不协调等问题。但目前对这种经营模式下人工林的土壤养分循环过程的认识还十分有限，特别是不同经营模式介导下植物特性、微生物、微环境等因素发生变化后是如何影响土壤养分循环过程仍知之甚少。

土壤微生物是连接地上植被群落和地下生态过程的重要纽带（Waldrop et al.，2000；You et al.，2014），它们参与土壤有机质的分解，调控着土壤养分的循环过程，是生态系统功能

的最重要驱动者和土壤养分循环的"引擎"（Xu et al.，2015；Maillard et al.，2019）。土壤中的N、磷（P）以有机态的形式为主，不能被植物直接吸收利用，必须经土壤微生物转化、吸收和"临时"保存的养分，才是植物吸收养分的"有效库"，但不同的土壤微生物群落组成（细菌和真菌）影响土壤养分的转化和有效性。大多数的土壤酶由微生物分泌产生，在一定程度上是表征土壤微生物功能大小的重要指标（You et al.，2014）。而土壤酶在有机物分解和营养物质循环中扮演着重要的催化剂角色，土壤酶活性的改变将会直接影响到植物养分的获取（Sinsabaugh et al.，2008；Wang et al.，2019）。

因此，该研究旨在探究桉树人工林引入固氮树种混交种植后，增加了其土壤N含量及其有效性的同时，可能改变了凋落物数量和质量以及土壤理化性质，将对土壤微生物群落结构和功能产生哪些影响？其关键的驱动因子是什么？并明确地上人工林类型与地下养分转化之间的关系，将为制定有效改善桉树人工林土壤质量，提高其养分有效性和系统生产力的可持续经营管理措施提供重要的科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究区和实验样地概况

该研究地点位于广西友谊关森林生态系统国家定位观测研究站区域内的中国林业科学研究院热带林业实验中心的哨平林场（22°10′ N, 106°50′ E）。该区域干、湿季节分明，年平均气温为 21℃，年平均降雨量为 1 400 mm。主要的土壤类型为花岗岩风化形成的红壤，山地丘陵为主要地貌（Huang et al.，2014）。

该研究选取第二代巨尾桉（*Eucalyptus urophylla*）与降香黄檀的混交林（MP）为研究对象，并以邻接的第二代巨尾桉纯林（PP）作为对照（CK）。MP 是 PP 于 2008 年引入降香黄檀混交种植（混交比例为 1:1）后形成的，而 MP 和 PP 的第二代巨尾桉均由第一代巨尾桉纯林在 2008 年皆伐后重新萌芽更新的。 2015 年，在考虑经营历史和地形因素相似的条件下，在 PP 和 MP 中分别设置了 3 块 400 m^2（20 m × 20 m）独立的研究样地，并对样地进行调查（标准群落调查法）。在 PP 中，巨尾桉的密度、胸径和树高分别为 1 096 株 • hm^{-2}、（12.64±1.03）cm 和（17.64±0.83）m；在 MP 中，巨尾桉的密度、胸径和树高分别为 1 032 株 • hm^{-2}、（12.51±0.76）cm 和（17.51±0.74）m，降香黄檀的密度、胸径和树高分别为 964 株 • hm^{-2}、（4.54±0.36）cm 和（5.61±0.53）m。

1.2 实验样品采集

1.2.1 土壤样品采集

于 2015 年 2 月（干季）和 8 月（湿季），分别对 PP 和 MP 的表层土壤进行采集，每块样地采集一个土壤样品，干湿两季共计 12 个土样。采集方法和过程如下：距离每块样地中心 5 m，在 0°、45°、90°、135°、180°、225°、270°和 315°方向上布设 8 个采样点，每个采样点用土钻（内径 5 cm）取一钻 0~10 cm 土层的土样，每块样地 8 个采样点的土壤最终充分混匀为一个土壤样品。

每个土壤样品仔细挑去杂质（如：枯枝落叶、根系和石块等），过土壤筛（2 mm）后分为两份：一份放置冰箱（-20 ℃）保存，用于土壤有效养分和土壤微生物指标的分析测定；另一份放置室内自然风干后继续研磨过土壤筛（0.149 mm），随后用于土壤其它理化指标的分析测定。

1.2.2 植物样品采集

在每块样地中随机布设 6 个 100 cm×100 cm 的尼龙网（孔径 1 mm）收集框用于测定凋落物的年产量（LF）；采用连续土钻法测定细根（直径< 2 mm）生物量（黄雪蔓等，2014）。凋落物和细根样品在 65℃下烘干至恒重后测定其 C、N 含量。

1.3 实验样品室内分析

1.3.1 土壤理化性质分析

土壤物理和化学指标的测定方法参照《土壤农化分析》进行（鲍士旦，2000）。称取新鲜土壤在 105℃下烘干至恒重，根据其质量减少量进行计算获得土壤含水量；土壤 pH 值采用 pH 计测定（土∶水=1∶2.5，w∶v）；土壤有机碳（SOC）采用 $K_2Cr_2O_7$-H_2SO_4 氧化法进行测定；土壤全氮（TN）采用凯氏定氮法进行测定；称取相当于 10 g 干重的鲜土经 50 ml 的 KCl （2 mol・L^{-1}）溶液浸提后，在流动分析仪上测定其 NH_4^+-N 和 NO_3^--N 含量（You et al.，2014）。土壤全磷（TP）采用硫酸消煮，钼锑抗比色法测定；有效磷（AP）采用 $NaHCO_3$（0.5 mol・L^{-1}）浸提，钼锑抗比色法测定。

1.3.2 土壤微生物群落结构测定

依据 Bossio et al.（1998）描述的方法和过程，采用磷脂脂肪酸法（PLFAs）测定土壤微生物群落结构；每种磷脂脂肪酸标记物的浓度均由 19∶0 的内标浓度计算获得，最后对每种磷脂脂肪酸进行归类并用于指示相应的微生物类群（如：细菌、真菌和放线菌等），归类方法参见 You et al.（2014）。

1.3.3 土壤酶活性测定

称取 1.25 g 鲜土，倒入 125 mL 的 50 mmol・L^{-1} 醋酸钠缓冲液（pH=5.0）中，搅拌并制成均质的土壤悬液。其中，采用荧光微平板法测定水解酶活性，测定波长为 365-450 nm（Saiya-Cork et al.，2002），采用比色法测定氧化酶活性，测定波长为 460 nm（Li et al.，2010）。所有测定均在酶标仪下进行，每个样品均设置 8 个重复，酶活性单位统一为 μmol・h^{-1}・g^{-1} dry soil。各种土壤酶的功能和底物信息详见表 1。

表 1 酶底物基本信息

Table 1 The details of enzyme substrate

酶种类 Enzymes	名称 Name	功能 Function	底物（浓度） Enzyme substrate (concentration)
水解酶 Hydrolytic enzyme	β-葡糖苷酶（BG）	降解纤维素 Cellulose degradation	4-MUB-β-D-glucoside（200 μmol・L^{-1}）
	N-乙酰-葡糖苷酶（NAG）	降解几丁质 Chitin degradation	4-MUB-N-acetyl-β-D-glucosaminide（200 μmol・L^{-1}）
	酸性磷酸酶（ACP）	将有机磷矿化成磷酸盐 Mineralizes organic P into phosphate	4-MUB-phosphate（100 μmol・L^{-1}）
氧化酶 Oxidation enzyme	酚氧化酶（PO）	催化氧化反应 Catalyzes oxidation reactions	L-DOPA（25 mmol・L^{-1}）
	过氧化酶（PER）	催化氧化反应 Catalyzes oxidation reactions	L-DOPA（25 mmol・L^{-1}）

注：BG. β-Glucosidase; NAG. N-acetyl-glucosaminidase; ACP. Acid Phosphatase; PO. Phenoloxidase; PER. Peroxidase.

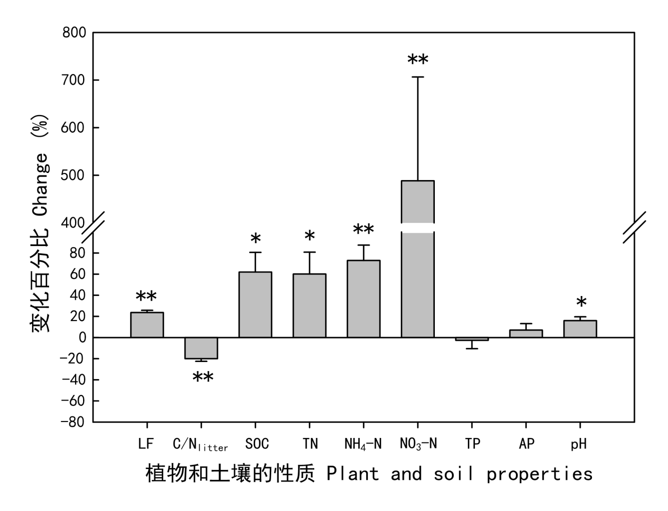
1.4 数据分析

在统计分析软件 SPSS 19.0（IBM，Chicago, IL, USA）上，采用独立样本 *t* 检验（Independent Sample *t* tests）检验 PP 和 MP 之间凋落物性质、土壤理化性质、土壤微生物生物量和土壤酶活性的差异程度，显著性水平设置为 $P<0.05$。采用主成分分析（Principal Component Analysis, PCA）检验 MP 和 PP 土壤微生物群落结构的分异程度，同时利用冗余分析（Redundancy analysis, RDA）对影响土壤微生物群落结构发生变异的环境因子进行排序，并通过模型最终筛选出最关键的驱动因子（$P<0.05$）。PCA 和 RDA 程序均在软件 CANOCO 4.5 上运行。

2 结果与分析

2.1 二代巨尾桉纯林引入降香黄檀混交种植对土壤理化性质的影响

通过对比分析 PP 和 MP 的土壤理化性质，结果发现：相对于 PP，MP 的土壤理化指标，包括土壤有机碳（SOC）、总氮（TN）、铵态氮（NH_4-N）、硝态氮（NO_3-N）和 pH 值分别显著或极显著增加了 61.92%（P<0.05）、60.12%（P<0.05）、72.87%（P<0.01）、488.49%（P<0.01）和 15.97%（P<0.05），这可能与降香黄檀引入到二代巨尾桉林后，显著提高凋落物数量（LF）和质量（低 C/N_{litter}），以及降香黄檀根系联合固氮菌的持续固氮有关（图 1）；MP 的土壤总磷（TP）和有效磷（AP）含量均无显著变化（P>0.05）（图 1），但 SOC/TP 和 TN/TP 的比率显著增加（P<0.05）（表 2）。



*P<0.05, **P<0.01 分别代表显著差异和极显著差异。下同。

*P<0.05, **P<0.01 respectively represent significant difference and extremely significant difference. The same bellow.

图 1 MP 的植物和土壤性质相对于 PP 的改变率

Fig. 1 The change rate of plant and soil properties in mixed plantations of *Eucalyptus urophylla* and *Dalbergia odorifera* (MP) compared to pure *Eucalyptus urophylla* plantations (PP)

表 2 PP 和 MP 土壤养分质量的变化

Table 2 Changes of soil nutrient quality in PP and MP

林分类型 Forest type	SOC/TN	SOC/TP	TN/TP	AN/TN (%)	AP/TP (%)
纯林（PP）	13.98±1.02a	12.37±0.99b	0.95±0.13b	4.9±0.10b	1.12±0.06a
混交林（MP）	12.95±0.84a	20.4±1.30a	1.52±0.12a	6.25±0.48a	1.23±0.05a

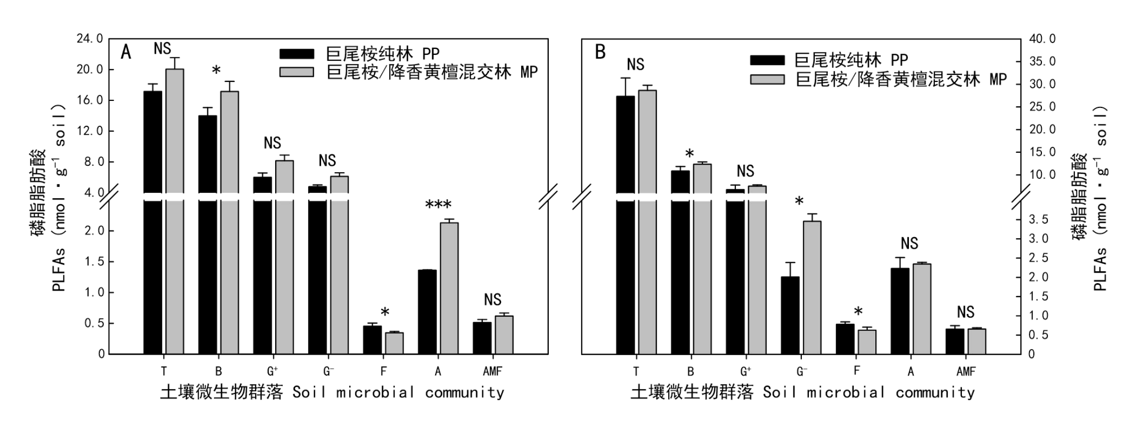
注：数值=平均值±标准误。不同小写字母代表差异显著，P<0.05。

Note: Value= mean ± standard error. Different lowercase letters means significant difference, P<0.05.

2.2 二代巨尾桉纯林引入降香黄檀混交种植对土壤微生物量和群落结构的影响

通过对比分析 PP 和 MP 的土壤微生物的总生物量和各类群的生物量，结果显示：在干冷季节（2 月），相比 PP，MP 的土壤总磷脂脂肪酸（表征总微生物生物量）、革兰氏阳性细菌、革兰氏阴性细菌和丛枝菌根真菌的生物量无显著变化（P>0.05），细菌和放线菌的生物量分别显著增加了 22.68%和 56.62%（P<0.05），但真菌的生物量显著减少了 23.52%（P<0.05）（图 2:A）；在湿热季节（8 月），与 PP 相比，MP 的土壤细菌和革兰氏阴性细

菌的生物量分别显著增加了 14.10%和 72.14%(P<0.05)，而真菌的生物量显著降低了 19.38%（P<0.05），总微生物生物量与其它类群（革兰氏阳性细菌、放线菌和丛枝菌根真菌）的生物量均无显著变化（P>0.05）（图 2:B）。PP 引入降香黄檀混交种植后，显著改变了真菌/细菌（F/B），但对革兰氏阴性细菌/阳性细菌（G^-/G^+）无显著影响（图 3）。



NS：P>0.05, *P<0.05, ***P<0.001 分别代表差异不显著、显著和极显著；T. 总磷脂脂肪酸；B. 细菌；G^+. 革兰氏阳性细菌；G^-. 革兰氏阴性细菌；F. 真菌；A. 放线菌；AMF. 丛枝菌根真菌。下同。

NS：P>0.05 *P<0.05, ***P<0.001 respectively represent non-significant, significant difference and extremely significant difference; T. Total phospholipid fatty acid; B. Bacteria; G^+. Gram-positive bacteria; G^-. Gram-negative bacteria; F. Fungi; A. Actinomycetes; AMF. Arbuscular mycorrhizal fungi. The same bellow.

图 2 PP 和 MP 在干冷季节（A）和湿热季节（B）的土壤微生物生物量

Fig. 2 Soil microbial communities biomass in the dry-cool (A) and wet-warm seasons (B) of PP and MP

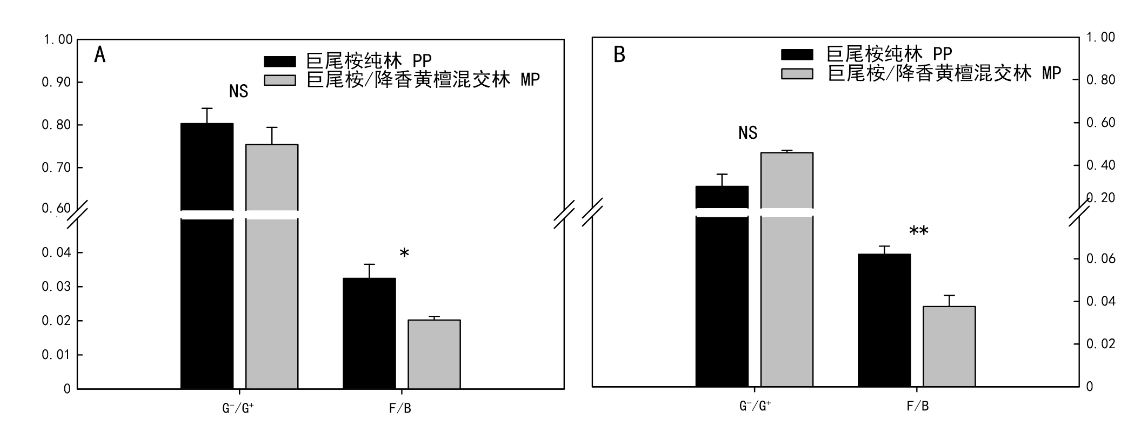


图 3 PP 和 MP 在干冷季节（A）和湿热季节（B）的 G^-/G^+和 F/B 的变化

Fig. 3 Changes of G^-/G^+ and F/B in the dry-cool (A) and wet-warm seasons (B) of PP and MP

注：NS：P>0.05 *P<0.05, ** P<0.01 分别代表差异不显著、显著和极显著。

Note: NS：P>0.05 *P<0.05, ** P<0.01 respectively represent non-significant, significant difference and extremely significant difference.

通过对 PP 和 MP 土壤的 23 种磷脂脂肪酸相对百分比（mol%）（表征微生物群落组成）进行主成分分析（PCA），结果显示：在干冷季节， PCA1 和 PCA2 分别解释了土壤微生物群落变异的 72.1%和 16.1%，其中 PCA1 能把 PP 和 MP 的土壤微生物群落明显区分开（图 4:A）；在湿热季节，PCA1 和 PCA2 分别解释了土壤微生物群落变异的 48.2%和 27.9%，其中 PCA1 和 PCA2 均能明显把 PP 和 MP 的土壤微生物群落区分开（图 4:B）。这些结果表

明 PP 引入降香黄檀混交种植后，能显著改变其土壤微生物群落结构。

冗余分析（RDA）结果表明：第一主轴和第二主轴分别能解释土壤微生物群落与环境因子之间关系变异的 84.6%和 9.4%，所选择的 9 个环境（C/N_{litter}、C/N_{soil}、LF、NH_4-N、SOC、TN、FR、NO_3-N 和 pH 值）能解释土壤微生物群落组成变异的 90%，模型通过排序最终确定其中的 pH 值、NH_4-N 和 C/N_{litter} 是驱动微生物群落组成变异的最重要因子（$P<0.05$）（图 5），它们对土壤微生物群落变异的解释率分别为 63%、8%和 6%。

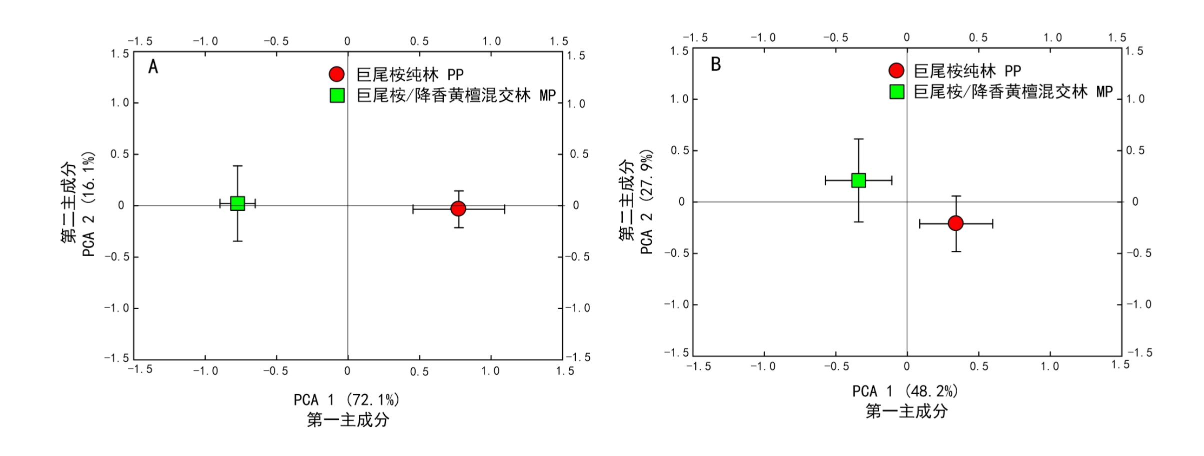


图 4 PP 和 MP 在干冷季节（A）和湿热季节（B）土壤微生物群落组成的主成分分析（PCA）

Fig. 4 Principal component analysis (PCA) of soil microbial community composition in the dry-cool (A) and wet-warm seasons (B) in PP and MP

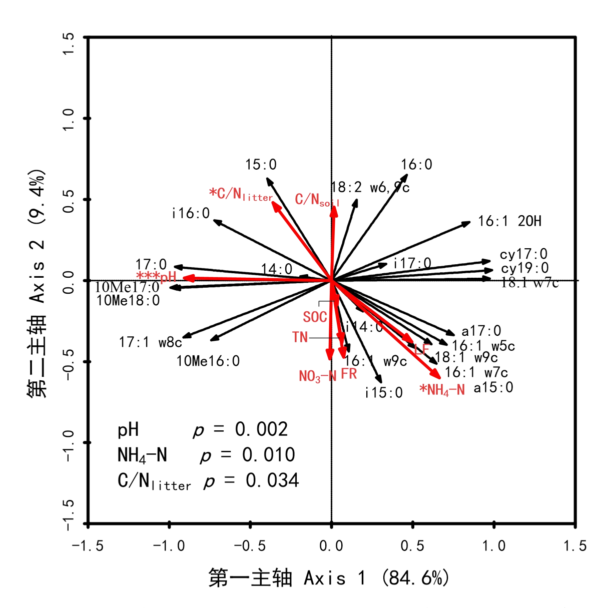


图 5 PP 和 MP 土壤微生物群落组成与重要环境因子的冗余分析（RDA）

Fig. 5 Redundancy analysis (RDA) of soil microbial community composition and dominant environmental factors in PP and MP

2.3 二代巨尾桉纯林引入降香黄檀混交种植对土壤酶活性的影响

研究发现：在干冷季节，与 PP 相比，MP 的β-葡萄糖苷酶活性（BG）和 N-乙酰-葡萄糖苷酶活性（NAG）分别显著提高了 25.38%和 41.04%（$P<0.05$），但过氧化物酶活性（PER）显著降低了 23.42%（图 6:A）；在湿热季节，MP 的 BG 和 NAG 也分别显著提高了 28.94%和 27.15%（$P<0.05$），但 PER 也极显著降低了 31.49%（$P<0.01$）（图 6:B）；而 PP 和 MP

的酸性磷酸酶活性（ACP）和酚氧化酶活性（PO）在干冷季节和湿热季节均无显著差异（*P*>0.05）（图 6:A 和图 6:B）。

土壤微生物群落和土壤酶活性的皮尔森（Pearson）相关性分析结果如表 3 所示：细菌和 G^-均与 PER 呈显著的负相关关系，而 G^+与 ACP 呈显著正相关关系；真菌与 PER 呈显著正相关关系，放线菌与 BG 也呈显著正相关关系，但 AMF 与所测定土壤酶活性的相关性不显著。

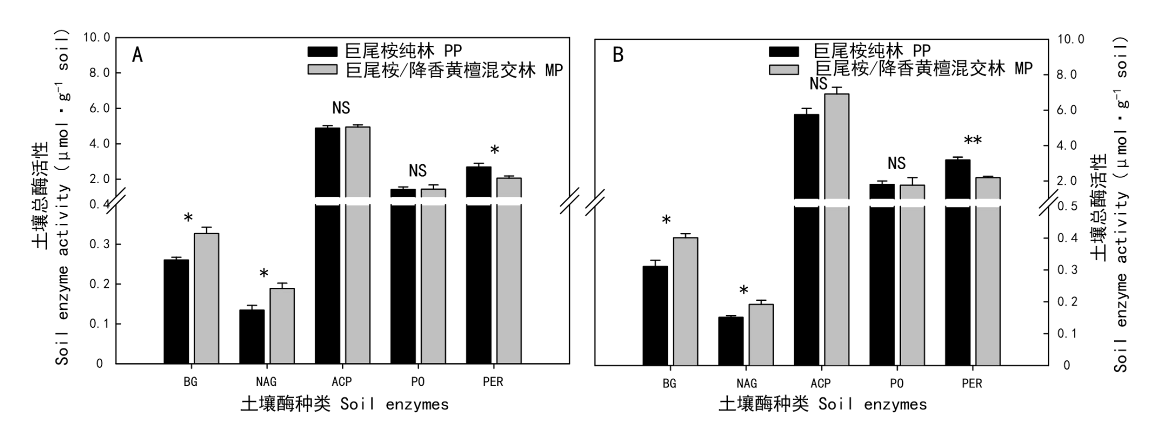


图 6 PP 和 MP 在干冷季节（A）和湿热季节（B）的土壤酶活性变化

Fig. 6 Changes of soil enzyme activity in the dry-cool (A) and wet-warm seasons (B) of PP and MP

表 3 土壤微生物群落与土壤酶活性的皮尔森（Pearson）相关性

Table 3 Pearson correlation between soil microbial community and soil enzyme activity

微生物群落 Microbial community	β-葡萄糖苷酶 BG	N-乙酰-葡萄糖苷酶 NAG	酸性磷酸酶 ACP	酚氧化酶 PO	过氧化物酶 PER
细菌 Bacteria	0.235	0.532	0.495	-0.328	-0.677*
革兰氏阳性细菌 Gram-positive bacteria	0.553	0.504	0.645*	0.022	-0.250
革兰氏阴性细菌 Gram-negative bacteria	-0.098	0.239	0.338	-0.369	-0.634*
真菌 Fungi	0.095	-0.254	-0.330	0.402	0.780**
放线菌 Actinomycetes	0.803**	0.529	0.414	0.375	-0.053
丛枝菌根真菌 Arbuscular mycorrhizal fungi	0.515	0.259	0.466	0.306	0.129

注: *P<0.05, **P<0.01。

Note: *P<0.05, **P<0.01.

3 讨论与结论

土壤 N 作为叶绿素和其他关键有机分子的基本组成元素，是植物生长和繁殖的最重要限制因子之一，其控制着生态系统的动态平衡并影响生物多样性和生态系统的功能。固氮植物根系与固氮菌的共生作用能够很好地发挥固氮菌的固氮能力，显著提高土壤 N 含量及其

有效性。本研究结果表明，珍贵固氮树种降香黄檀与二代巨尾桉混交 7 年后，能显著提高其土壤氮的有效性和改变土壤养分质量，例如显著提高了 SOC/TP、TN/TP、AN/TN 等，这些与许多研究的结果相似（Rothe & Binkley，2001；Kelty，2006；Huang et al.，2014；Huang et al.，2017）。

在该研究中，我们重点探究了降香黄檀与二代巨尾桉混交种植后其土壤微生物生物量、群落结构和功能的变化及其关键的驱动因素。土壤 N 含量及其有效性的提高对于土壤微生物量的影响机理直至目前还没有统一的结论，一些研究发现土壤 N 含量的提高有利于土壤微生物的繁殖生长（Waldrop et al.，2004；Zeglin et al.，2007），但也有一些研究发现增加土壤 N 含量有时会抑制土壤微生物的繁殖生长，有时这种影响却微乎其微（DeForest et al.，2004； Treseder，2008），这也在一定程度上解释了该研究中 MP 的土壤微生物生物量为什么没有显著增加。目前对驱动土壤微生物群落结构变化的关键生物和非生物因子的认识还存在较大的不确定性（Brockett et al.，2012；You et al.，2014）。该研究通过利用冗余分析揭示了固氮树种降香黄檀与二代巨尾桉混交种植后导致的土壤 pH 值、NH_4^+-N 和凋落物碳氮比（C/N_{litter}）的显著变化是引起土壤微生物群落结构发生显著变化的最主要驱动因子。这与 Högberg et al.（2007）的研究结论一致，土壤 pH 值是驱动土壤微生物群落结构变化的最重要环境因子之一。而最近的一些研究表明，土壤养分质量（如：土壤有机质、NH_4^+-N、NO_3^--N 和土壤 C/N）也是驱动土壤微生物群落变化的主要因素（You et al., 2014; Wan et al., 2015），这与该研究结论相似。降香黄檀与二代巨尾桉混交种植后，显著提高了土壤养分质量（高的土壤有机质、NH_4^+-N 和 NO_3^--N 含量；低的土壤 C/N），这些变化显著提高了土壤细菌群落的生物量，但显著降低了真菌群落的比例，该研究结果也得到许多研究结论的支持。他们认为细菌群落往往在肥沃的土壤中占有优势，而真菌群落的丰富度与土壤和凋落物的碳氮比呈显著的正相关关系（Wu et al.，2011；You et al., 2014）。固氮树种的引入，提高了土壤的氮含量并降低了土壤的碳氮比，在一定程度上对土壤真菌群落的生长起到抑制作用（Huang et al.，2014），这可能也是该研究发现降香黄檀与二代巨尾桉混交种植后土壤真菌群落为什么呈现显著下降趋势的原因之一。与 Högberg et al.（2007）的研究发现土壤碳氮比是驱动土壤微生物群落结构的最主要因素不同，该研究结果显示凋落物 C/N 比土壤 C/N 能更好指示土壤微生物群落结构的变化，这与 Mitchell et al.（2010）发现的植物群落组成特征比土壤理化性质能更好预测土壤微生物群落组成变化的结论相似。

土壤微生物群落结构的改变在一定程度上将驱动其功能的变化，最终影响土壤的生态过程（Waldrop & Firestone，2006）。该研究的结果表明固氮树种降香黄檀与二代巨尾桉混交种植后，其土壤微生物群落的改变也对其参与土壤碳、氮和磷转化的功能产生不同程度的影响。You et al.（2014）借助于多变量分析技术（RDA）发现土壤细菌群落和参与土壤碳转化的β-葡萄糖苷酶活性呈正相关关系，但真菌群落和参与木质素降解的过氧化物酶活性成正相关关系；真菌具有分泌过氧化物酶的生理功能，而过氧化物酶活性在参与木质素解聚过程中发挥着至关重要的作用（Courty et al.，2008），这与本研究发现 MP 具有更高的β-葡萄糖苷酶活性和更低的过氧化物酶活性的结论一致。这也暗示了固氮树种降香黄檀与二代巨尾桉混交种植后，将有利于加快土壤有机质的周转和增加土壤稳定性有机碳的比例（Huang et al.，2017）。然而有趣的是一些研究发现真菌也能分泌参与几丁质降解的 N-乙酰-葡萄糖苷酶（Miller et al.，1998），但在 MP 中，参与几丁质降解的 N-乙酰-葡萄糖苷酶活性要显著高于 PP，这与 Cusack et al.（2011）在一个低海拔山地森林的施氮试验研究结果相似，土壤氮的添加提高了土壤 N-乙酰-葡萄糖苷酶的活性。

土壤 P 以有机磷和无机磷两种形式存在，是森林生态系统植物生长繁殖必需的大量元素之一，而且土壤 P 循环过程是养分循环的核心部分（Peri et al.，2008；Vincent et al.，2012）。亚热带地区特殊的“雨热同期”气候，使得土壤中矿化产生的有效性 P 被大量淋溶流失；此外，其土壤具有高度风化和酸性特点，土壤中富含 Fe、Al 氧化物，有效性 P 极易与其紧密结合而难于被植物吸收利用。因此，P 元素也成为除 N 元素外限制该地区人工林生产力提高

和可持续经营的最关键因子之一。Nasto et al.（2014）的研究发现在土壤 P 缺乏的地区，固氮树种可以促进其土壤磷酸酶的分泌而获取更多的 P。但在本研究中，我们发现固氮树种降香黄檀与二代巨尾桉混交种植后其土壤酸性磷酸酶活性没有显著增加，这可能与本研究混交林的混交种植年限过短（7 年）有关。但这也表明土壤 N 对土壤 P 循环的影响还存在很多的不确定性，从侧面反映了土壤 N、P 循环的复杂性，因此我们还需开展更多、更系统和更长期的试验进行验证。

综上所述，在该研究中，珍贵固氮树种降香黄檀与二代巨尾桉混交种植后，能显著提高土壤氮的有效性，改善土壤养分质量，显著改变了土壤微生物群落结构，提高土壤细菌群落的生物量，但降低了真菌群落的生物量；显著提升了土壤微生物参与土壤碳和氮转化的功能，土壤磷转化速率有增加的趋势但差异不显著。该研究说明在连续短周期经营的桉树林中套种固氮树种降香黄檀，将可能是改善桉树林土壤质量，提高养分有效性的一种有效的经营管理措施。

参考文献：

BAO SD, 2000. Soil agrochemical analysis[M]. Beijing: China Agriculture Press: 1-120. [鲍士旦, 2000. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社: 1-120.]

BOSSIO DA, SCOW KM, GUNAPALA N, et al.， 1998. Determinants of soil microbial communities: effects of agricultural management, season, and soil type on phospholipid fatty acid profiles[J]. Microbial Ecol, 36(1): 1-12.

BROCKETT BF, PRESCOTT CE, GRAYSTON SJ, 2012. Soil moisture is the major factor influencing microbial community structure and enzyme activities across seven biogeoclimatic zones in western Canada[J]. Soil Biol Biochem, 44(1): 9-20.

CHINESE SOCIETY OF FORESTRY, 2016. The report on the scientific development of-eucalyptus[M]. Beijing: China Forestry Publishing House: 25-282. [中国林学会. 2016. 桉树科学发展问题调研报告[M]. 北京：中国林业出版社: 25-282.]

COURTY PE, FRANC A, PIERRAT JC, GARBAYE J, 2008. Temporal changes in the ectomycorrhizal community in two soil horizons of a temperate oak forest[J]. Appl. Environ. Microbiol, 74(18): 5792-5801.

CUSACK DF, SILVER WL, TORN MS, et al.， 2011. Changes in microbial community characteristics and soil organic matter with nitrogen additions in two tropical forests[J]. Ecology, 92(3): 621-632.

DEFOREST JL, ZARK DR, PREGITZER KS, et al.， 2004. Atmospheric nitrate deposition, microbial community composition, and enzyme activity in northern hardwood forests[J]. Soil Sci Soc Amer J, 68(1): 132-138.

HÖGBERG MN, HOGBERG P, MYROLD DD, 2007. Is microbial community composition in boreal forest soils determined by pH, C-to-N ratio, the trees, or all three?[J]. Oecologia, 150(4): 590-601.

HUANG XM, LIU SR, WANG H, et al.， 2014, Changes of soil microbial biomass carbon and community composition through mixing nitrogen-fixing species with *Eucalyptus urophylla* in subtropical China[J]. Soil Biol Biochem, 73: 42-48.

HUANG XM, LIU SR, YOU YM, 2014. Study on the soil respiration and its components of the second rotation *Eucalyptus* plantations in subtropical China[J]. For Res, 27(5): 575-582. [黄雪蔓，刘世荣，尤业明, 2014. 第二代桉树人工纯林和混交林土壤呼吸及其组分研究[J]. 林业科学研究, 27(5): 575-582.]

HUANG XM, LIU SR, YOU YM, et al.， 2017. Microbial community and associated enzymes activity influence soil carbon chemical composition in *Eucalyptus urophylla* plantation with

mixing N_2-fixing species in subtropical China[J]. Plant Soil, 414(1-2).: 199-212.
KELTY MJ, 2006. The role of species mixtures in plantation forestry[J]. For Ecol Manage, 233(2-3): 195-204.
LI X, HAN S, GUO Z, SHAO D, et al.， 2010. Changes in soil microbial biomass carbon and enzyme activities under elevated CO_2 affect fine root decomposition processes in a Mongolian oak ecosystem[J]. Soil Biol Biochem, 42(7): 1101-1107.
MAILLARD F, LEDUC V, BACH C, et al.， 2019. Soil microbial functions are affected by organic matter removal in temperate deciduous forest[J]. Soil Biol Biochem, 133: 28-36.
MEIER CL, BOWMAN WD, 2010. Chemical composition and diversity influence non-additive effects of litter mixtures on soil carbon and nitrogen cycling: implications for plant species loss[J]. Soil Biol Biochem, 42(9): 1447-1454.
MILLER M, PALOJÄRVI A, RANGGER A, et al.， 1998. The use of fluorogenic substrates to measure fungal presence and activity in soil[J]. Appl Environ Microbiol, 64(2): 613-617.
MITCHELL, RJ, HESTER, AJ, CAMPBELL, CD, et al.， Is vegetation composition or soil chemistry the best predictor of the soil microbial community?[J]. Plant Soil, 2010, 333(1-2): 417-430.
NASTO MK, ALVAREZ-CLARE S, LEKBERG Y, et al.， 2014. Interactions among nitrogen fixation and soil phosphorus acquisition strategies in lowland tropical rain forests[J]. Ecol Lett, 17(10): 1282-1289.
PERI PL, GARGAGLIONE V, PASTUR GM, 2008. Above-and belowground nutrients storage and biomass accumulation in marginal *Nothofagus antarctica* forests in Southern Patagonia[J]. For Ecol Manage, 255(7): 2502-2511.
ROTHE A, BINKLEY D, 2001. Nutritional interactions in mixed species forests: a synthesis[J]. Can J For Res, 31(11): 1855-1870.
SAIYA-CORK KR, SINSABAUGH RL, ZAK DR, 2002. The effects of long term nitrogen deposition on extracellular enzyme activity in an *Acer saccharum* forest soil[J]. Soil Biol Biochem, 34(9): 1309-1315.
SINSABAUGH RL, LAUBER CL, WEINTRAUB MN, et al.， 2008. Stoichiometry of soil enzyme activity at global scale[J]. Ecol Lett, 11(11): 1252-1264.
TAO YL, ZHOU XG, WEN YG, et al.， 2018. Effects of biochar and nitrogen addition on soil nutrients under different ground clearance method in mixed *Eucalyptus* and *Castanopsis hystrix* plantations[J]. Guangxi Sci, 25(2): 128-138.[陶彦良，周晓果，温远光，等, 2018. 不同林地清理方式下生物炭和氮添加对桉树红锥混交林土壤养分的影响[J]. 广西科学, 25(2): 128-138.]
TRESEDER KK, 2008. Nitrogen additions and microbial biomass: A meta-analysis of ecosystem studies[J]. Ecol Lett, 11(10): 1111-1120.
VINCENT AG, SCHLEUCHER J, GROBNER G, et al.， 2012. Changes in organic phosphorus composition in boreal forest humus soils: the role of iron and aluminium[J]. Biogeochemistry, 108(1-3): 485-499.
WALDROP MP, BALSER TC, FIRESTONE MK, 2000. Linking microbial community composition to function in a tropical soil[J]. Soil Biol Biochem, 32(13): 1837-1846.
WALDROP MP, FIRESTONE MK, 2006. Response of microbial community composition and function to soil climate change[J]. Microbial Ecol, 52(4): 716-724.
WALDROP MP, ZAK DR, SINSABAUGH RL, et al.， 2004. Nitrogen deposition modifies soil carbon storage through changes in microbial enzymatic activity[J]. Ecol Appl, 14(4): 1172-1177.
WAN XH, HUANG ZQ, HE ZM, et al.， 2015. Soil C: N ratio is the major determinant of soil

microbial community structure in subtropical coniferous and broadleaf forest plantations[J]. Plant Soil, 387(1): 103-116.

WANG C, XUE L, DONG Y, et al.， 2019. Contrasting effects of chinese fir plantations of different stand ages on soil enzyme activities and microbial communities[J]. Forests, 10(1): 11.

WEN YG, ZHOU XG, YU SF, et al.，2018. The redicament and countermeasures of development of global eucalyptus plantations[J]. Guangxi Sci, 25(2): 107-116. [温远光，周晓果，喻素芳，朱宏光, 2018. 全球桉树人工林发展面临的困境与对策[J]. 广西科学, 25(2): 107-116.]

WU J, LIU Z, WANG X, et al.， 2011. Effects of understory removal and tree girdling on soil microbial community composition and litter decomposition in two Eucalyptus plantations in South China[J]. Funct Ecol, 25(4): 921-931.

XU Z, YU G, ZHANG X, et al.， 2015.The variations in soil microbial communities, enzyme activities and their relationships with soil organic matter decomposition along the northern slope of Changbai Mountain[J]. Appl Soil Ecol, 86: 19-29.

YOU YM, WANG J, HUANG XM, et al.， 2014. Relating microbial community structure to functioning in forest soil organic carbon transformation and turnover[J]. Ecol Evol, 4(5): 633-647.

ZEGLIN LH, STURSOVA M, SINSABAUGH RL, et al.，2007. Microbial responses to nitrogen addition in three contrasting grassland ecosystems[J]. Oecologia, 154(2): 349-359.